

Beschreibung

Technischer Prozess sowie Anlage zur Gewinnung und/oder Verkapselung von lebenden Zellen aus Organen

Die Erfindung bezieht sich auf ein Verfahren und auf die entsprechende Anlage zur Gewinnung und/oder Verkapselung von lebenden Zellen aus Organen. Dabei wird das Organ, das die Zellen enthält in einem ersten Schritt in einem enzymatischen Prozess in Einzelzellen oder Zellverbände zerlegt. Aus dem erhaltenen Zellgemisch werden danach die relevanten Zellen isoliert. Die so gewonnenen Zellen können anschließend verkapselt werden. Die Erfindung beschreibt einen technischen Prozess und eine Anlage die diese drei Schritte in sich vereint.

In der Medizin oder Pharmazie aber auch in der technologischen Praxis ist es immer häufiger erforderlich lebende Zellen einzusetzen. Um deren Handhabbarkeit und auch Haltbarkeit zu verbessern werden diese in verkapselter Form verwendet.

So werden beispielsweise bei der Medikamentenentwicklung die Wirkstoffe auf ihre Wirkung in der Leber hin untersucht. Dies erfordert aufwendige Tierversuche und teure klinische Tests. Obwohl Leberzellen aus der Fleischindustrie in großen Mengen zur Verfügung stehen, ist die Entwicklung eines Testkits auf der Basis isolierter Leberzellen bisher gescheitert, da Einzelzellen nur einige Stunden am Leben bleiben. Durch eine Isolation der Zellen aus der Leber und einer anschließenden Verkapselung ist es möglich, die Zellen so zu präparieren, dass sie mehrere Wochen am Leben bleiben, wodurch sie erstmals im Rahmen von Standard-Testkits für toxikologische Untersuchungen eingesetzt werden können.

Ein anderer Ansatz besteht darin Krankheiten wie beispielsweise den Diabetes Mellitus mit Hilfe der Transplantation von lebenden, verkapselten Inselzellen zu therapieren. Die Zellen werden aus dem Organ isoliert und so verkapselt, dass sie vor dem körpereigenen Immunsystem geschützt sind. Auf diese Weise kann man artfremde Zellen transplantieren. Verkapselt man z.B. Schweine-Inselzellen und spritzt diese einem zuckerkranken Patienten, so würden die Zellen nicht nur das erforderliche Insulin produzieren, sondern auch den Blutzucker regeln. In der Literatur sind eine ganze Reihe derartiger Versuche beschrieben.

Bei all diesen Vorhaben müssen in einem ersten Schritt die Zellen aus dem Organ gewonnen also isoliert werden. Bisher haben sich zwei grundlegend verschiedene Methoden in der Laborpraxis durchgesetzt: 1. Ein Zerkleinern des Organs mit mechanischen Mitteln und anschließendes Aufarbeiten der erhaltenen Zell- und Gewebssuspension. 2. Ein

enzymatisches Zerlegen des Organs in Einzelzellen und anschließendes Abtrennen der relevanten Zellen aus dem Gemisch.

In der US-Anmeldung US 5,079,160 beispielsweise, wird ein Verfahren zur Gewinnung von lebenden Zellen aus Organen von Säugetieren beschrieben. Dies geschieht dergestalt, dass in einem ersten Schritt durch ein Enzym das Bindegewebe des Organs zerstört wird, wobei die einzelnen Zellen freigesetzt werden. Durch Abkühlen wird das Enzym inaktiviert. Die Zellsuspension wird anschließend in einem Dichtegradienten aufgetrennt. Die Patentschrift beschreibt auch eine Laboranordnung zu diesem Zweck. Nach dem hier dargestellten Verfahren und mit der dargestellten Laboranordnung ist ein Auftrennen der Organe in im technischen, automatisierten Verfahren nicht möglich. Auch werden keine Angaben zu einer nachträglichen Verkapselung der Zellen gemacht.

Um die Zellen oder Zellverbände handhabbar zu machen ist es gängige Praxis sie anschließend zu verkapseln. Um dies zu erzielen werden sie in einem ersten Schritt einer flüssigen, zumeist wasserlöslichen Grundsubstanz beigemischt, die dann durch geeignete Vorrichtungen vertropft wird. Die gebildeten Tropfen werden ausgehärtet und schließen den in ihnen gelösten oder suspendierten Stoff oder die Zellen mit ein. Dies wird in der Regel durch ein Vernetzen in einem Fällbad oder durch Änderung physikalischer Parameter erreicht. Die so gebildeten Kügelchen deren Durchmesser in einem Bereich von einigen Mikrometern bis einigen Millimetern liegt, können anschließend beschichtet werden.

In der Fachliteratur werden an mehreren Stellen Verfahren beschrieben, die eine Verkapselung lebender Zellen zum Gegenstand haben. So beschreibt z.B. G.Troost et.al. (G.Troost et. al. Sekt, Schaumwein, Perlewein, Stuttgart 1995) in Alginat-Kugeln immobilisierte Hefe zur Flaschengärung bei der Schaumweinherstellung. Hierdurch kann das zeitaufwendige, manuelle Abrütteln des Hefedepots durch das rasche Absinken der Kügelchen in der Sektflasche ersetzt werden. Eine Gewinnung der Zellen aus Organen ist hier, da nicht erforderlich nicht beschrieben.

F. Lim und A. Sun beschreiben in der Zeitschrift „Science Band 210, Seiten 908-910, Jahrgang 1980 eine Kapsel mit einer semipermeablen Membran zur Immobilisierung von lebenden Zellen bei der der Kapselkern aus einer einzigen Schicht eines Poly-L-Lysin / Alginatkomplexes umgeben ist. Bei diesen Kapseln wird ein Austreten der Zellen aus dem Kapselkern verhindert. Diese Membrankapsel eignet sich wegen ihrer relativ geringen mechanischen Stabilität nicht zum Einsatz in technischen Prozessen. Auch können darin

die Membran dafür durchlässig ist. Diese Methode ist auch Gegenstand der US-Anmeldung US 4,323,457. Sie ist in der dargestellten Form nicht für einen technischen Prozess geeignet und befasst sich auch nicht mit der Zellgewinnung.

In der Patentschrift P 43 12 970.6 wird eine Membrankapsel beschrieben, die auch zur Immobilisierung von Enzymen und Proteinen, aber auch lebenden Zellen geeignet ist. Hier ist der Kern, der das Immobilisat enthält mit einer mehrlagigen Hülle umgeben, wobei jede dieser Lagen der gesamten Hülle eine gewisse Eigenschaft verleiht. Über die vorteilhafte Wahl der Hüllenpolymere kann die Durchlässigkeit der Membran so verringert werden, dass auch Enzyme in der Kapsel bleiben, während die viel kleineren Substrate und Produkte die Membran passieren können. Diese Kapseln können aber bislang nur im Labormaßstab, also in kleinen Mengen hergestellt werden. Auch fehlt hier der Hinweis auf eine Methode zur Zellgewinnung.

All diese Verfahren haben entweder immer nur einen Schritt des Prozesses, also entweder die Zellgewinnung oder die Verkapselung zum Gegenstand oder aber sie sind nur für den Labormaßstab also nicht für ein technisches Verfahren geeignet.

Ausgehend von dieser Sachlage liegt der Erfindung die Aufgabe zugrunde, einen Verfahren sowie die dazugehörige Anlage zu beschreiben, die es erstmals ermöglicht, lebende Zellen aus einem Organ in einem technischen Prozess zu gewinnen, aufzutrennen und zu verkapseln.

Der erfindungsgemäße Herstellungsprozess gliedert sich in drei Abschnitte, die Zellgewinnung, die Zelltrennung und die Zellverkapselung:

Das Organ aus dem die Zellen gewonnen werden, wird in einem ersten in Einzelzellen zerlegt. Dies geschieht in einem enzymatischen Prozess, wie er vom Prinzip her literaturbekannt ist. In einem zweiten Verfahrensschritt wird die erhaltene Zellsuspension im aufgetrennt. Dabei wird die für die weitere Verarbeitung relevante Zellsorte mit Hilfe einer Antikörpermarkierung aus dem Gemisch abgetrennt. Sollte eine Verkapselung der erhaltenen Zellen erforderlich sein, kann dies in einem weiteren Verfahrensschritt erfolgen. Die Verkapselung basiert auf dem Prinzip wonach die relevanten Zellen in einem ersten Schritt einer flüssigen, zumeist wasserlöslichen Grundsubstanz beigemischt werden, aus der dann durch Vertropfen und Aushärten mechanisch stabile, beschichtbare Partikel gewonnen werden.

eine Maschine, der ein solcher Prozess zu Grunde liegt, besteht demnach aus drei Modulen, je eines für jeden Verfahrensschritt: Zellgewinnung, Zelltrennung und Zellverkapselung.

Fig. 1 und Fig. 1a zeigen den Grundaufbau einer Anlage bei der dem das erfindungsgemäße Verfahren umgesetzt wurde. Alle Komponenten der Maschine sind so gefertigt, dass die Anlage durch Autoklavieren sterilisiert werden kann. Die Zellgewinnung erfolgt durch eine Zerlegung des Organs in Einzelzellen und/oder Zellverbände. Dies geschieht im Modul ZI. Der genaue Aufbau und die Funktionsweise des Zellsolationsmoduls (ZI) ist in Fig. 2 dargestellt und wird nachfolgend eingehend erläutert. Nach der Isolation gelangt das Zellgemisch in das Zelltrennmodul ZT. Der Aufbau des Moduls zur Zelltrennung ZT ist in Fig. 3 schematisch dargestellt, seine Funktionsweise wird an einer nachfolgenden Stelle beschrieben. Eine nachträgliche Verkapselung der relevanten Zellen kann mit Hilfe des Moduls ZVK durchgeführt werden. Der Aufbau dieses Moduls ist in Fig. 4 dargestellt ist und seine Funktionsweise wird in einem der nachfolgenden Abschnitte erklärt.

Fig. 2 zeigt in einer schematischen Darstellung das Zellsolationsmodul (ZI) der Anlage. Es funktioniert folgendermaßen: Das Organ eines frisch verstorbenen, beispielsweise tierischen Spenders wird in der Reaktionskammer RK auf die Siebplatte F1 gelegt. Aus dem Vorratsbehälter EV wird anschließend über die Dosierpumpe (z.B. eine Kolbenpumpe) P2 eine Enzymlösung dem Organ zugeleitet. Ein solches Enzym kann z.B. eine Collagenase sein. Die Maschine ist so konstruiert, dass die Reaktionskammer herausnehmbar ist, so dass das Organ unter sterilen Bedingungen in der Kammer platziert werden kann und dass die Enzymlösung bei Bedarf über eine Zuleitung direkt in ein Blutgefäß des Organs geleitet werden kann. Die Reaktionskammer RK ist Teil eines geschlossenen Kreislaufs in dem sie während des ganzen Zellsolationsvorgangs von einem Zellenährmedium durchspült wird. Dieses Medium wird aus dem Vorratsbehälter MV über die Pumpe P1 und über die Ventile V2 und V1 in dem Wärmetauscher WT1 auf ca. 35 - 38°C erwärmt und in die Kammer RK geleitet. P1 kann beispielsweise eine Zahnradpumpe oder eine andere selbstansaugende Pumpe mit abnehmbarem Pumpenkopf sein. Der Pumpenkopf kann so zusammen mit dem Rest der Maschine autoklaviert werden. Der Wärmetauscher WT1 ist an einen Heizthermostat HT angeschlossen, der über den Temperaturfühler TF1 die Temperatur in der Kammer RK ermittelt und auf ca. 35 - 38° C regelt. Bei dieser Temperatur ist das Enzym, die Collagenase nämlich aktiv und zersetzt das Bindegewebe des Organs, wodurch die einzelnen Zellen herausgelöst und freigesetzt werden. Um diesen Vorgang zu unterstützen wird im Inneren der Kammer RK durch den Rührantrieb RA eine turbulente Verwirbelung des Nährmediums erzeugt.

Die frei gewordenen Zellen werden von dem Nährmedium erfasst, das die Kammer RK durchströmt und über den Wärmetauscher WT2 in die Dekantierkammer DK geleitet. Bei diesem Vorgang wird das Nährmedium mit den Zellen auf ca. 3 – 8 °C abgekühlt, wodurch das Enzym, die Collagenase inaktiviert wird. Die Temperatur wird durch den Kältethermostat KT geregelt. Der Thermostat KT ist mit dem Temperaturfühler TF 2 verbunden, der laufend die Temperatur in der Dekantierkammer DK ermittelt und auf ca. 3 - 8 °C regelt. Das Einleitrohr des Nährmediums (mit Zellen) wird in das Innere der Dekantierkammer DK durch die Filterfritte F2 hindurch geführt. Diese Filterfritte besteht z.B. aus Edelstahl und hat eine Porosität die geringer ist als der Durchmesser der aus dem Organ herausgelösten Zellen (z.B. 5 µm). Auf diese Weise werden die Zellen aus dem Nährmedium abgetrennt und sammeln sich unterhalb der Fritte. Die Fritte ist für das Nährmedium durchlässig. Dieses wird oberhalb der Fritte wieder abgepumpt und gelangt über eine entsprechende Stellung des Ventils V2 und V1 wieder zurück in den Kreislauf. Im Kreislauf befindet sich auch noch ein Druckschalter DS der bei einem Zusetzen der Filterfritte F2 und somit einem übermäßigen Druckanstieg im System die Pumpe P1 entsprechend steuert. Durch Öffnen des Ventils V3 werden die isolierten Zellen als Zellsuspension ZSR aus der Dekantierkammer geleitet und können dem Zelltrennmodul ZT zugeführt werden. Soll die Anlage gereinigt werden, wird über V2 die entsprechende Spüllösung angesaugt und durch das System gepumpt. Nach einem Durchlauf kann die Spüllösung durch Öffnen von V1 aus dem Kreislauf entfernt werden.

Die durch die Zellisolation gewonnene Suspension ZSR ist ein Gemisch aus unterschiedlichen Zelltypen. Für manche Anwendungen kann die Suspension in dieser Form eingesetzt werden. In der Regel muss jedoch aus dem Gemisch eine bestimmte Zellsorte abgetrennt werden. Methoden zur Auftrennung von Zellgemischen werden in der Literatur an mehreren Stellen beschrieben. Neben der klassischen Trennmethode in einem Dichtegradienten gefolgt von einem Abzentrifugieren der einzelnen Fraktionen setzt sich immer mehr die Trennung mit magnetisch markierten Antikörpern durch. Bei diesem Verfahren werden spezifische Antikörper eingesetzt, die magnetische Partikel enthalten. Diese Antikörper setzen sich auf bestimmten Zelltypen fest, machen diese magnetisch wodurch sie in einem Magnetfeld aus dem Zellgemisch herausgetrennt werden können. Werden alle Zellen markiert außer einem bestimmten Zelltyp spricht man von einer Negativmarkierung. Im Umgekehrten Fall, bei dem nur ein gewisser Zelltyp markiert wird handelt es sich um eine Positivmarkierung.

Die vorliegende Erfindung nutzt zur Auftrennung des aus dem Modul ZI gewonnenen Suspension die Methode mit spezifischen, magnetischen Antikörpern. Dieser

Verfahrensschritt ist im Modul ZT technisch umgesetzt. Der Aufbau dieses Moduls ist in Fig. 3 schematisch dargestellt.

Das Zelltemnmodul aus Fig. 3 arbeitet wie folgt: Die Rohsuspension ZSR aus ZI wird in einem Behälter ZS aufgefangen. Hier wird der magnetisch markierte Antikörper aus MP zudosiert. Dieser Antikörper kann je nach weiterer Verwendung der Zellen entweder eine Positiv- oder eine Negativmarkierung bewirken. Als Beispiel wird bei der weiteren Beschreibung von einer Negativmarkierung ausgegangen. Das so markierte Zellgemisch wird durch die Pumpe P3 in die Trennkammer TK gepumpt. P3 ist beispielsweise eine Schlauchpumpe oder jede andere, die aufgrund ihrer Bauart zum Pumpen von Zellsuspensionen geeignet ist. Die Trennkammer besitzt Kanäle, durch die die Suspension geleitet wird. Unterhalb der Kammer befindet sich ein Magnet M. Ist dieser Magnet ein Permanentmagnet besitzt die Kammer einen Mechanismus, der ein Entfernen des Magneten ermöglicht (SRT). Ist der Magnet ein Elektromagnet besitzt dieser eine Steuerung (SRT) mit Hilfe derer er zu- oder abgeschaltet werden kann. Die markierte Zellsuspension wird in der Kammer einem Magnetfeld ausgesetzt wodurch die markierten Zellen zurückgehalten werden. Über VT werden bei einer Negativmarkierung nur noch die für die weitere Verarbeitung relevanten Zellen von der Flüssigkeit transportiert. Man erhält eine sortenreine Zellsuspension ZS2 in Zellnährmedium. Durch Entfernen des Magnetfeldes werden nun auch die markierten Zellen von der Flüssigkeit weitertransportiert und über ein Umstellen des Ventils VT als Zellsuspension ZS1 ausgespült.

Die erhaltenen Zellen können direkt als Suspension ZS1 oder ZS2 verwendet werden. Bei einer ganzen Reihe von Zellen ist es aber von Vorteil, sie in einem weiteren Schritt zu verkapseln. Auf diese Weise kann die Haltbarkeit der Zellen erhöht und deren Handling verbessert werden.

In Fig. 4 ist das Zellverkapselungsmodul ZVK der Prozesses schematisch dargestellt. Es erlaubt eine Verkapselung der Zellen sowohl in sogenannten Membrankapseln aber auch in membranlosen Kapseln. Die Zellsuspension ZS2 wird in einem Mischgefäß MI, das mit einem Rührantrieb RA2 ausgestattet ist in einer Grundstofflösung GL, vorzugsweise Natriumalginat suspendiert oder gelöst. Diese Grundstoffsuspension oder -lösung wird danach in dann über V8 in den Druckbehälter DB und von da über V3 in den Verkapselungsreaktor VR befördert. Dies kann entweder wie in Fig. 3 gezeigt durch Druckluft erfolgen (Regelung über das Ventil DRV und Manometer M), es können aber auch Pumpen, Förderschnecken usw. verwendet werden. Aus dieser Suspension oder Lösung werden dann durch Eintropfen mit Hilfe des Düsenkopfes DSK in ein Fällbad, Kügelchen geformt. Dies

kann entweder durch Komplexieren mit einer mehrwertigen Salzlösung wie z.B. bei der Verwendung von Alginat erfolgen, oder durch die Änderung physikalischer Parameter wie z.B. Temperatur bei anderen Grundstoffen. Zum Vertropfen der Flüssigkeit können je nach gewünschter Größe, Produktivität und Größenverteilung mehrere Verfahren eingesetzt werden. Hierbei können entweder Düsen Verwendung finden, die Kapillaren besitzen, bei denen der Tropfen über einen Luftstrom abgerissen wird oder aber auch solche bei denen der Tropfenabriss über Vibration, elektrostatische Ablenkung usw. erfolgt.

Beim Eintauchen ins Fällbad wird der Flüssigkeitstropfen zum Gel und schließt das zu verkapselnde Material ein. Das benötigte Fällreagens wird vor Beginn des Tropfvorgangs über die Ventile V4, V6, V7 mit Hilfe der Pumpe P4 aus dem Vorratsbehälter VB1 in den Verkapselungsreaktor befördert. Durch eine tangentielle Einleitung der Flüssigkeit auf zusätzliches Rühren verzichtet werden. Während des Vertropfens wird das Fällreagens über eine geeignete Stellung der Ventile V6 und V7 mit Hilfe der Pumpe P4 im Kreis geführt. Nach Beendigung des Vertropfens und des Aushärtens der Partikel wird das Fällreagens über die Ventile V6, V7 und V5 wieder in den Behälter VB1 zurückgepumpt. Ist das Reagens verbraucht kann es auch durch eine entsprechende Stellung von V5 verworfen werden. Danach wird über die Ventile V4, V6 und V7 eine Waschlösung in den Reaktor VR gepumpt, wodurch die Kügelchen von dem überschüssigen Fällreagens befreit also gewaschen werden.

Ist eine Beschichtung der Kügelchen gewünscht können in einem ähnlichen Vorgang aus den Vorratsbehältern VB2, VB3 usw. die entsprechenden Beschichtungslösungen in den Reaktor VR gepumpt und daraus wieder entfernt werden. Die Beschichtung der Gelpartikel erfolgt durch deren Kontakt mit den jeweiligen Beschichtungslösungen. Dies sind verdünnte wässrige Lösungen von Polymeren mit anionischen bzw. kationischen Gruppen wie z.B. Chitosan, Polyvinylpyrrolidon, Polyethylenimin, Carbocymethylcellulose, Alginat, Polyacrylsäure usw. die auf der Kapseloberfläche sogenannte Polyelektrolytkomplexschichten bilden. Durch wiederholtes Eintauchen der Partikel in diese Lösungen werden, wie in P 43 12 970.6 beschrieben, mehrere Lagen der Kapselhülle gebildet.

Die verkapselten Zellen werden über das Ventil AV2 aus dem Reaktor VR als Suspension ZK ausgeschwemmt. Je nach späterem Einsatzgebiet können die Kapseln danach entweder inkubiert, eingefroren oder getrocknet werden.

Patentansprüche

1. Verfahren und Anlage zur Gewinnung und/oder Verkapselung von lebenden Zellen aus Organen dadurch gekennzeichnet, dass das Organ, das die Zellen enthält in einem enzymatischen Prozess in Einzelzellen und/oder Zellverbände zerlegt wird, aus dem so erhalten Zellgemisch anschließend die relevanten Zellen abgetrennt werden und diese danach verkapselt werden können.
2. Verfahren nach Anspruch 1 dadurch gekennzeichnet, dass es mehrere oder alle der folgenden Schritte umfasst, die auch mehrmals wiederholt werden können:
 - Umspülen eines Organs mit einer auf ca. 35 – 38° C erwärmten Nährflüssigkeit
 - Heraustrennen von Zellen aus dem Organ mit Hilfe eines Enzyms
 - Weitertransport der herausgelösten Zellen durch die Nährflüssigkeit in Form einer Suspension
 - Abkühlen der dadurch resultierenden Zellsuspension auf ca. 3 – 8° C
 - Aufkonzentrieren der Zellsuspension durch ein Abtrennen der Zellen aus der Suspension mit Hilfe einer porösen Fritte
 - Rückführen der Nährflüssigkeit nach Abtrennung der Zellen in einen Kreislauf
 - Markieren bestimmter Zelltypen in der konzentrierten Suspension mit Hilfe magnetisch markierter Antikörper
 - Abtrennen der so markierten Zellen aus der Suspension in einem Magnetfeld
 - Suspendieren der relevanten Zellfraktion in einem Grundstoff
 - Vertropfen dieser Grundstoff Suspension
 - Fällen der Tropfen
 - Spülen und Suspendieren der durch Fällung entstandenen Kügelchen in einer Waschflüssigkeit
 - Umspülen der Kügelchen mit einer polykationischen Polymerlösung und Ausbilden einer kationischen Ladung auf der Kugeloberfläche
 - Waschen der Kügelchen mit einer Waschflüssigkeit
 - Waschen der Kügelchen mit einer Detergenzlösung
 - Umspülen der Kügelchen mit einer polyanionischen Polymerlösung und Ausbilden einer anionischen Ladung auf der Kugeloberfläche

- Spülen und Suspendieren der durch Fällung entstandenen Kügelchen in einer Waschflüssigkeit
 - Suspendieren der durch Fällung entstandenen Kügelchen mit den Zellen in einem Zellnährmedium
 - Inkubieren der Kügelchen mit den Zellen
 - Einfrieren der Kügelchen mit den Zellen
 - Trocknen der Kügelchen mit den Zellen
3. Verfahren nach Anspruch 1 und 2 dadurch gekennzeichnet, dass das zur Zellsolation eingesetzte Enzym eine Collagenase ist
 4. Verfahren nach Anspruch 1 und 3 dadurch gekennzeichnet, dass der Grundstoff in den die Zellen zur Verkapselung eingerührt werden ein löslicher Naturstoff oder Kunststoff ist.
 5. Verfahren nach Anspruch 1 bis 4 dadurch gekennzeichnet, dass der Grundstoff durch ein mechanisches Hilfsmittel vorzugsweise eine Förderschnecke oder eine Pumpe in eine Vorrichtung zur Tropfenerzeugung befördert wird.
 6. Verfahren nach Anspruch 1 bis 5 dadurch gekennzeichnet, dass der Grundstoff pneumatisch in eine Vorrichtung zur Tropfenerzeugung befördert wird.
 7. Verfahren nach Anspruch 1 bis 6 dadurch gekennzeichnet, dass die Vorrichtung zur Tropfenbildung Teil eines Reaktionsgefäßes ist
 8. Verfahren nach Anspruch 1 bis 7 dadurch gekennzeichnet, dass aus dem Grundstoff durch Vibration, durch einen Luftstrom, durch eine Rotationsbewegung (Zentrifugalkräfte) und/oder durch Emulgieren Tropfen gebildet werden.
 9. Verfahren nach Anspruch 1 bis 8 dadurch gekennzeichnet, dass die gebildeten Tropfen chemisch, z.B. durch den Einfluss von Salzen gefällt werden können.
 10. Verfahren nach Anspruch 1 bis 9 dadurch gekennzeichnet, dass die gebildeten Tropfen physikalisch, z.B. durch Temperaturänderung gefällt werden können.
 11. Verfahren nach Anspruch 1 bis 10 dadurch gekennzeichnet, dass die gefällten Tropfen die aus einem Organ gewonnenen lebenden Zellen enthalten.

12. Verfahren nach Anspruch 1 bis 11 dadurch gekennzeichnet, dass die gefällten Tropfen in dem Fällbad in Schwebel gehalten werden
13. Verfahren nach Anspruch 1 bis 12 dadurch gekennzeichnet, dass die gefällten Tropfen in dem Fällbad durch Rühren in Schwebel gehalten werden.
14. Verfahren nach Anspruch 1 bis 13 dadurch gekennzeichnet, dass die gefällten Tropfen in dem Fällbad durch die Fließgeschwindigkeit des umgebenden Mediums in Schwebel gehalten werden.
15. Verfahren nach Anspruch 1 bis 14 dadurch gekennzeichnet, dass die gefällten Tropfen durch Umspülen mit geeigneten Polymerlösungen beschichtet werden.
16. Verfahren nach Anspruch 1 bis 15 dadurch gekennzeichnet, dass die gefällten Tropfen während des Beschichtens in Schwebel gehalten werden
17. Verfahren nach Anspruch 1 bis 16 dadurch gekennzeichnet, dass die gefällten Tropfen während des Beschichtens durch Rühren in Schwebel gehalten werden.
18. Verfahren nach Anspruch 1 bis 17 dadurch gekennzeichnet, dass die gefällten Tropfen während des Beschichtens durch die Fließgeschwindigkeit des umgebenden Mediums in Schwebel gehalten werden.
19. Verfahren nach Anspruch 1 bis 18 dadurch gekennzeichnet, dass die beschichteten Kügelchen eine Hülle aufweisen, die den Kern und somit das verkapselte Material vollständig umschließt.
20. Verfahren nach Anspruch 1 bis 19 dadurch gekennzeichnet, dass die Hülle der beschichteten Kügelchen aus einer oder mehrerer radial angeordneten Schichten besteht.
21. Verfahren nach Anspruch 1 bis 20 dadurch gekennzeichnet, dass Schichten der Hülle Bereiche unterschiedlicher Dichte sein können.
22. Verfahren nach Anspruch 1 bis 21 dadurch gekennzeichnet, dass die beschichteten Kügelchen ungetrocknet, also feucht gelagert und verwendet werden können.

23. Verfahren nach Anspruch 1 bis 22 dadurch gekennzeichnet, dass die beschichteten Kügelchen gefriergetrocknet werden können.
24. Verfahren nach Anspruch 1 bis 23 dadurch gekennzeichnet, dass die beschichteten Kügelchen luftgetrocknet werden können.
25. Verfahren nach Anspruch 1 bis 24 dadurch gekennzeichnet, dass zum Fällen und/oder Beschichten eingesetzten Lösungen entweder als Konzentrate oder gebrauchsfertig, in verdünnter Form verwendet werden.
26. Anlage nach Anspruch 1, die nach einem Verfahren nach Anspruch 1 bis 25 arbeitet, dadurch gekennzeichnet, dass sie mehrere der folgenden Hauptkomponenten aufweist:
- Reaktionskammer zur Aufnahme des Organs mit Siebplatte und Rührwerk (RK)
 - Kälte- (KT) und Heizthermostat (HT)
 - Wärmetauscher zum Temperieren der Flüssigkeiten (WT1, WT2)
 - Dekantiergefäß mit poröser Fritte und Rohrdurchleitung (DK)
 - Kammer zur Trennung von markierten Gemischen im Magnetfeld (TK)
 - Mischbehälter für den Grundstoff und die Zellen (MI)
 - Vorratsbehälter für das Fällbad (VB1)
 - Vorratsbehälter für die Beschichtungslösungen (VB2, VB3, usw.)
 - Reaktionsgefäß für die Vertropfung und Fällung der Grundstoff-Zellsuspension (VR)
 - Vorrichtung zum Trocknen der beschichteten Kügelchen
 - Pumpen (P1, P2, P3) und Ventile (V1, V2,...)
 - Entsprechende Steuer- und Regeltelle
27. Anlage nach Anspruch 1 bis 26 dadurch gekennzeichnet, dass sie gemäß Fig. 1 bzw. Fig. 1a arbeitet und/oder ihre Komponenten gemäß Fig. 1 bzw. Fig. 1a angeordnet und/oder miteinander verbunden sind.
28. Anlage nach Anspruch 1 bis 27 dadurch gekennzeichnet, dass sie ein Zellisolutionsmodul besitzt, das gemäß Fig. 2 arbeitet und/oder dessen Komponenten gemäß Fig. 2 angeordnet und/oder miteinander verbunden sind.

29. Anlage nach Anspruch 1 bis 28 dadurch gekennzeichnet, dass sie ein Zelltrennmodul besitzt, das gemäß Fig. 3 arbeitet und/oder dessen Komponenten gemäß Fig. 3 angeordnet und/oder miteinander verbunden sind.

30. Anlage nach Anspruch 1 bis 29 dadurch gekennzeichnet, dass sie ein Zellverkapselungsmodul besitzt, das gemäß Fig. 4 arbeitet und/oder dessen Komponenten gemäß Fig. 4 angeordnet und/oder miteinander verbunden sind.

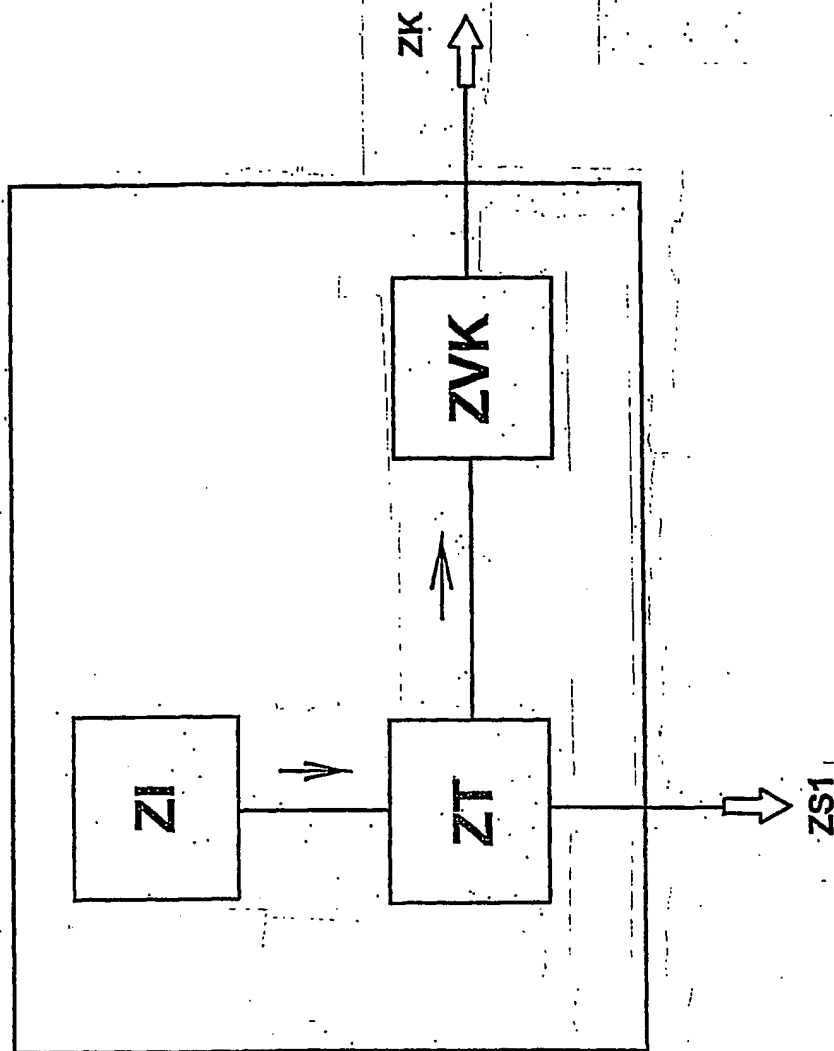


Fig. 1

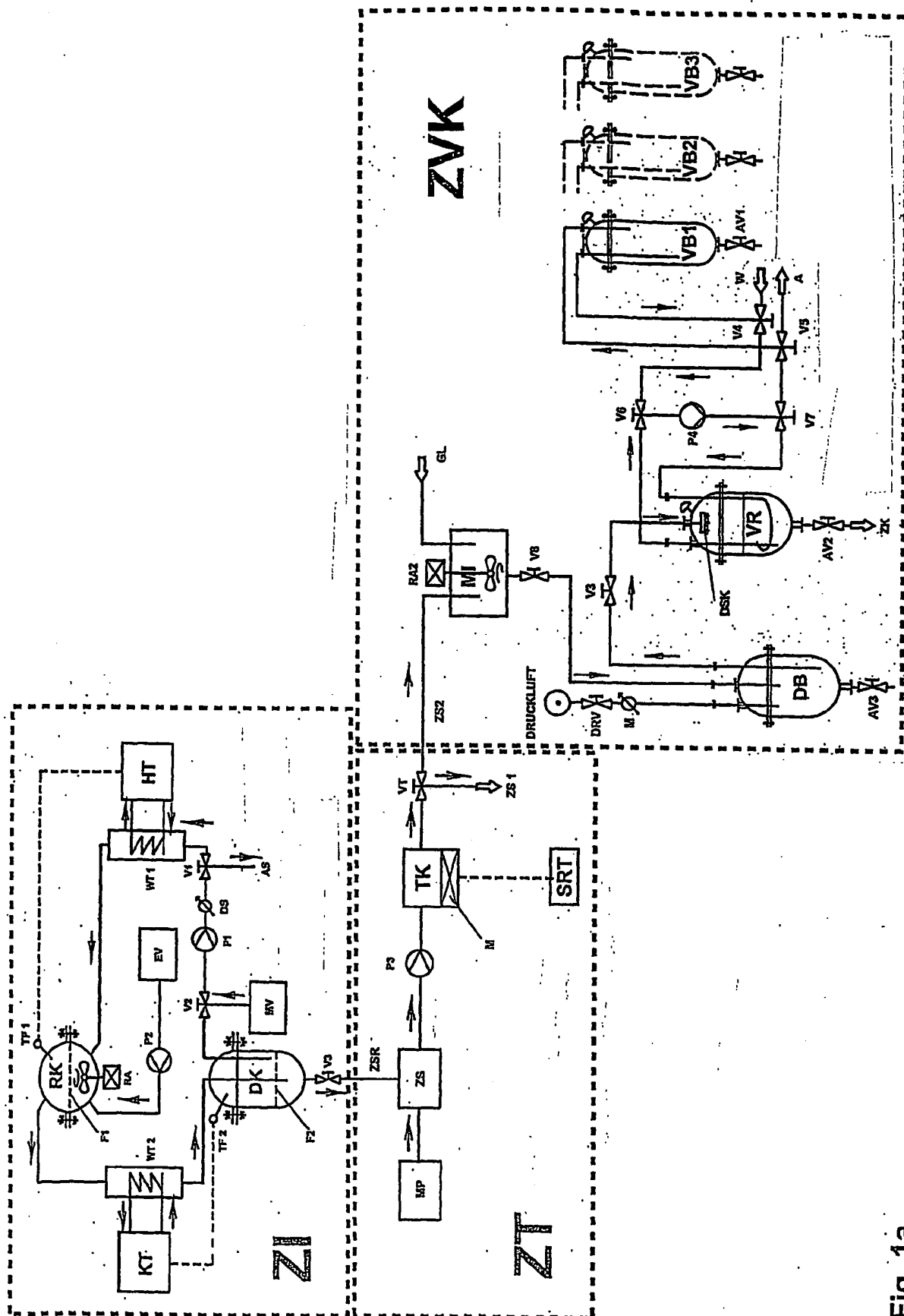
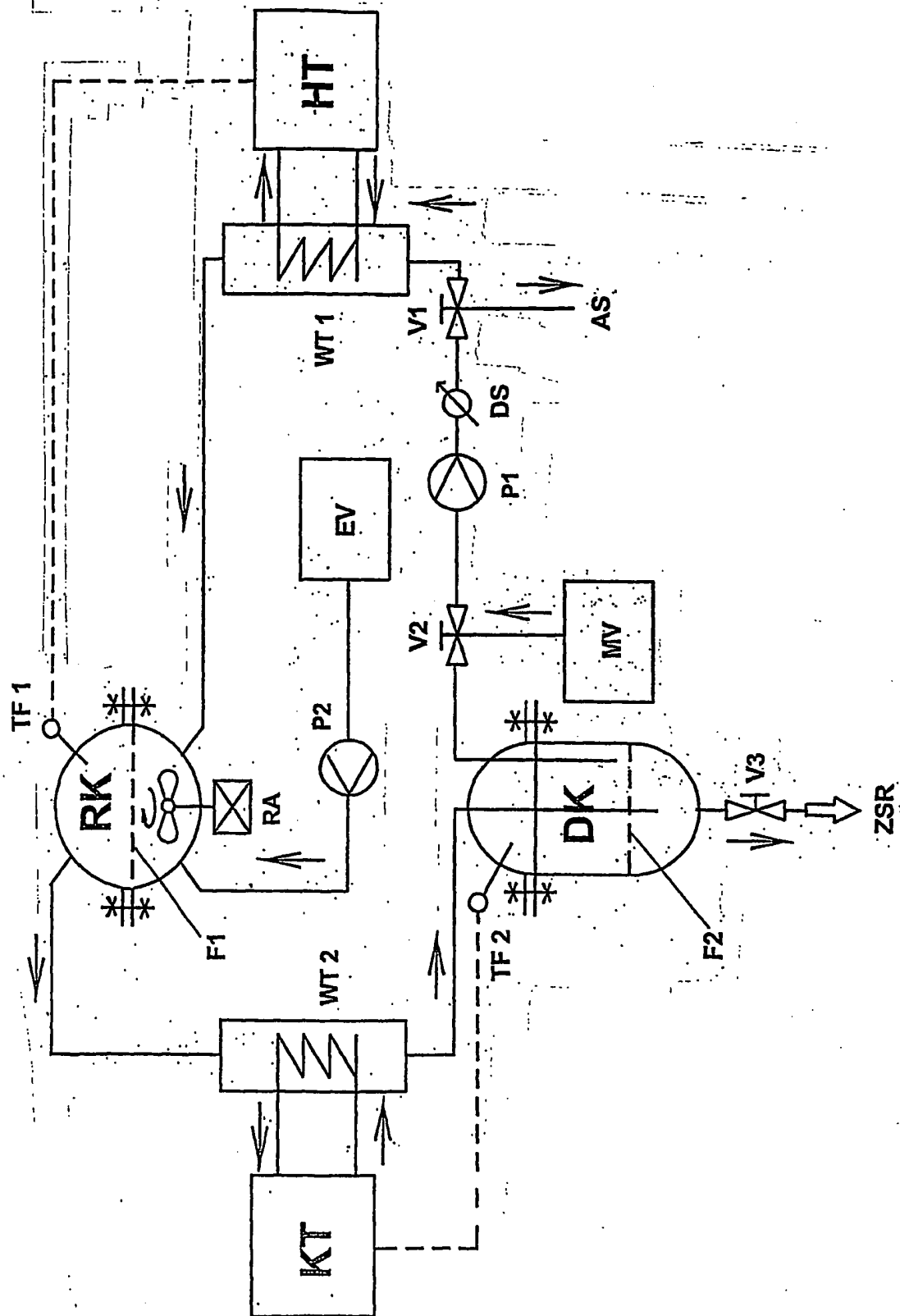
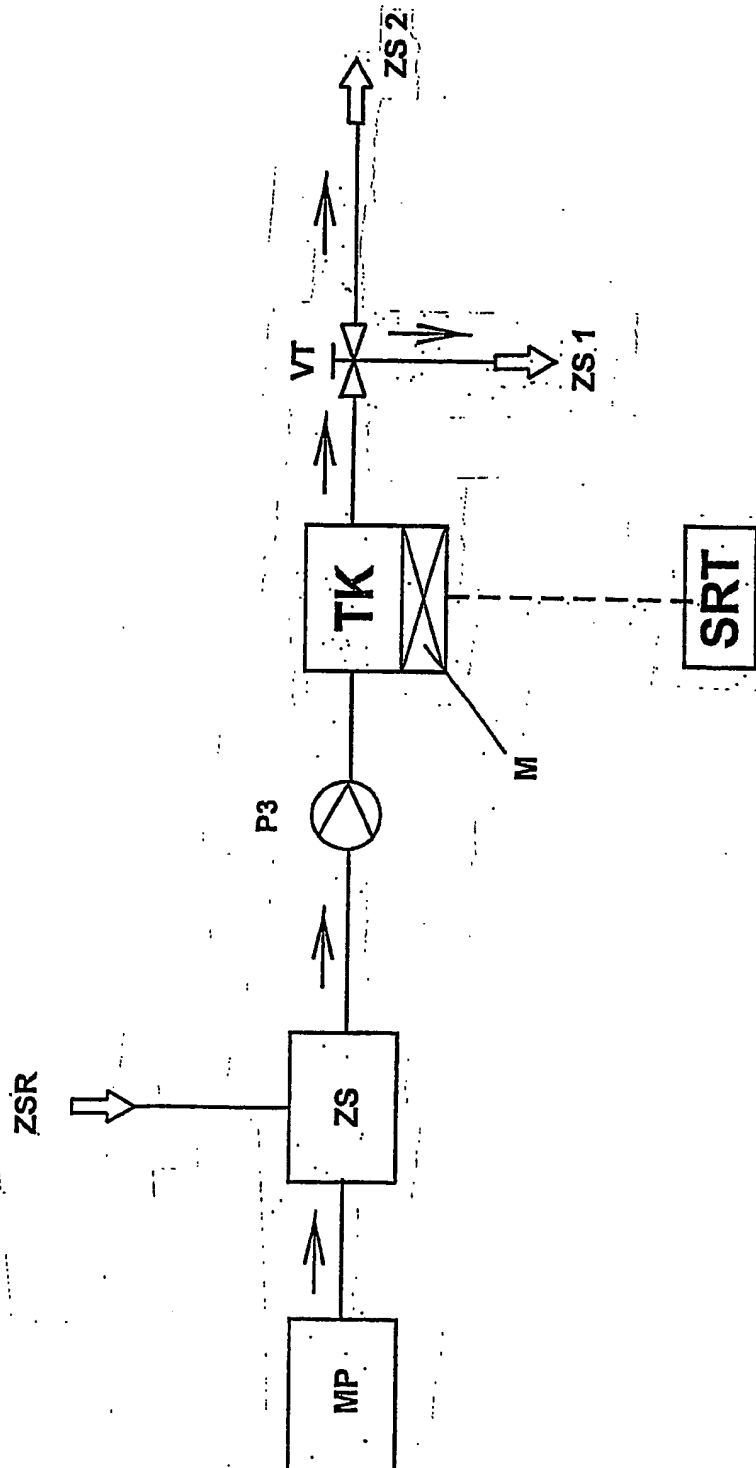


Fig. 1a





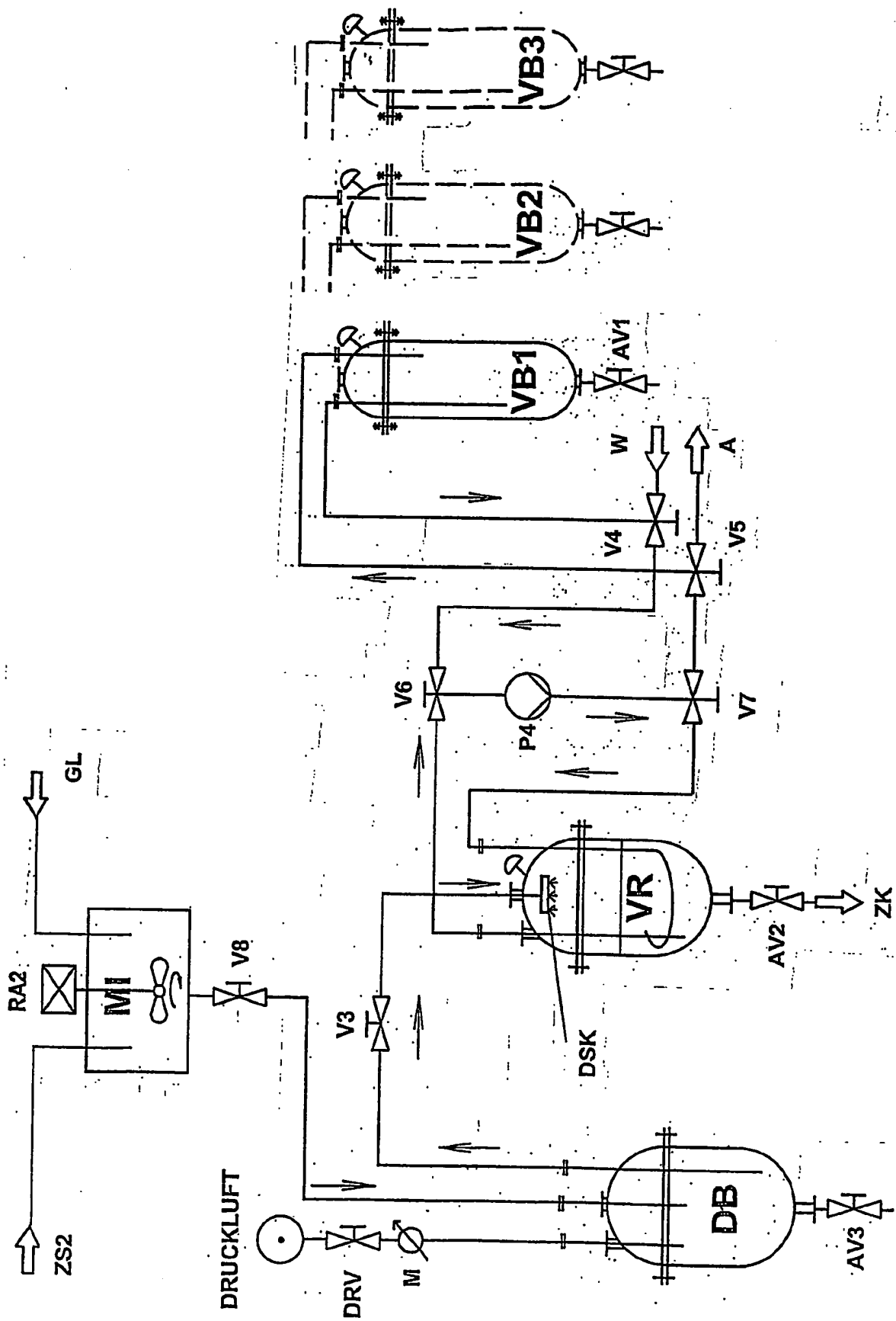


Fig. 4

**This Page is Inserted by IFW Indexing and Scanning
Operations and is not part of the Official Record**

BEST AVAILABLE IMAGES

Defective images within this document are accurate representations of the original documents submitted by the applicant.

Defects in the images include but are not limited to the items checked:

☐ BLACK BORDERS

☐ IMAGE CUT OFF AT TOP, BOTTOM OR SIDES

☒ FADED TEXT OR DRAWING

☐ BLURRED OR ILLEGIBLE TEXT OR DRAWING

☐ SKEWED/SLANTED IMAGES

☐ COLOR OR BLACK AND WHITE PHOTOGRAPHS

☐ GRAY SCALE DOCUMENTS

☒ LINES OR MARKS ON ORIGINAL DOCUMENT

☐ REFERENCE(S) OR EXHIBIT(S) SUBMITTED ARE POOR QUALITY

☐ OTHER: _____

IMAGES ARE BEST AVAILABLE COPY.

As rescanning these documents will not correct the image problems checked, please do not report these problems to the IFW Image Problem Mailbox.